WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welTROmec
Call No. paM WC262 1913 Z81u

UEBER EINEN AUD BRUNNENWASSER GEZUCHTETEN CHOLERAVIBRIO, URSACHE EINER CHOLERAEPIDEMIE

G. ZIROLIA

Hygienischen Rundschau, 1913, 18.

22200153933

not in volume
+1001

(Separatabdruck aus der Hygienischen Rundschau 1913, No. 18.)

TROPICAL DISEASES BUREAU LIBRARY.
TROPICAL DISEASES BUREAU RECEIVED 13 OCT. 1913

Aus dem hygienischen Institute der Kgl. Universität Genua.
(Vorstand: Prof. Dr. P. Canalis.)

Ueber einen aus Brunnenwasser gezüchteten Choleravibrio, Ursache einer Choleraepidemie.

Von

Dr. G. Zirolia,
Oberassistenten.

Während im Sommer 1911 in der Provinz Genua eine Choleraepidemie mit dem typischen Verlaufe der Ansteckungsepidemien herrschte, traten am 14. August in Sori, einer kleinen Stadt an der östlichen Riviera mit ca. 2000 Einwohnern, 17 km von Genua entfernt, unvermutet 8 Cholerafälle auf. Die Gleichzeitigkeit der Fälle an einem bis dahin seuchenfreien Orte leitete den Verdacht auf das Trinkwasser als wahrscheinlichen Ursprung der Infektion.

Die Gemeinde Sori wird von drei kleinen Wasserleitungen mit Trinkwasser versorgt. Im Sommer jedoch wird fast von der ganzen Bevölkerung das kühlere Wasser eines Brunnens vorgezogen, der inmitten des Städtchens liegt; das Wasser der Leitungen wird fast ausschliesslich zu Reinigungszwecken benützt. Auf Grund der Untersuchungen verdichtete sich der Verdacht der Verunreinigung besonders auf diesen Brunnen. Er wurde daher am Tage der Anzeige der Cholerafälle geschlossen. Allein, wie es nicht anders bei der Inkubation der Cholera von 1—5 Tagen erwartet werden konnte, es traten auch nach dem Brunnenschlusse noch viele Cholerafälle auf, und am 20. August waren sie mit Einschluss der 8 vom 14. August auf 27 gestiegen, die fast sämtlich auf den Genuss verunreinigten Wassers zurückgeführt werden konnten. Vom 20. bis 24. August, an welchem Tage der letzte Fall vorkam, kamen nur 4 Fälle zur Kenntnis, deren Ursache eher einer Uebertragung durch Kontakt zuzuschreiben war.

Der Brunnen befindet sich an einer öffentlichen Strasse, 8 m von dem Bette des Flüsschens „Sori“ entfernt, welches das Städtchen durchzieht. Der Brunnengrund entspricht ungefähr der Wasserebene des Flüsschens, in welchem auf seinem Laufe wahrscheinlich einige Tage vorher die Wäsche eines choleraverdächtigen Kranken gewaschen worden war, ohne dass der Fall zur Kenntnis der Behörde gelangte. Es kann deshalb bei der kiesigen Beschaffenheit des Flussbodens und des Teiles, der ihn vom Brunnen trennt, angenommen werden, dass die Verunreinigung auf diesem Wege zustande kam.

Im Auftrage von Prof. Canalis begab ich mich am 15. August nach Sori zur Entnahme der Wasserproben der drei Leitungen und des Brunnens zum Zwecke der bakteriologischen Analyse.

Die Proben wurden in sterilisierten 3 Literflaschen von weissem Glase mit emailliertem Stöpsel aufgenommen.

Im Laboratorium legte ich sogleich Kulturen in peptonisiertem Wasser an: 1 Liter Wasser von jeder Probe auf 10 Erlenmeyerkölbchen verteilt. Nach 12 Stunden bemerkte ich in den Kulturen mit dem Brunnenwasser eine reichliche und charakteristische Entwickelung von Vibrionen auf der Oberfläche der Kulturflüssigkeit, während in den Kulturen mit dem Wasser der 3 Leitungen auch nach 48 Stunden keine krummen Formen zu beobachten waren.

Behufs Isolierung des Vibrio führte ich Kulturen in Serienstreifen auf alkalischem Agar in Petrischalen aus.

Ueberzeugt, dass die Vibrionen im Wasser in ziemlicher Anzahl vorhanden seien, legte ich sogleich neue Kulturen in peptonisiertem Wasser an mit 1, 2, 3, 4, 5, 4, 5, 10, 50 ccm Wasser und erhielt bei allen Proben mit Ausnahme der von 1 ccm rasche und reichliche, der vorhergegangenen identische Vibrionenentwickelung.

Der aus dem Wasser des Brunnens von Sori gezüchtete Vibrio wies alle Eigentümlichkeiten des Choleravibrio auf und war mit einem aus den Entleerungen eines Patienten in Sori gleichzeitig gezüchteten Stamme vollkommen identisch. Er war von ausgesprochen gekrümmter Gestalt, äusserst beweglich, mit einer einzigen Geissel versehen, entfärbte sich nach Gram, entwickelte sich in charakteristischer Weise in Gelatinekultur, ergab die salpetrige Indolreaktion, machte die Milch nicht gerinnen, wurde glatt und rasch von Ziegenanticholeraserum bei einer Verdünnung 1 : 3000 agglutiniert (Titer des Serums 1 : 6000), war für Meerschweinchen virulent (1 Normalöse tötete ein 300 g schweres Tier), ergab den Pfeifferschen Versuch und Komplementablenkung.

Es war somit festgestellt, dass das Brunnenwasser durch Choleravibrionen verunreinigt und die Ursache der Choleraepidemie von Sori geworden war.

Leider musste ich auf die chemische Prüfung des Brunnenwassers verzichten, da alsbald Kalk in den Brunnen geschüttet und dieser geschlossen wurde. 2 Liter des Wassers der ersten Entnahme standen mir indes noch zur Verfügung, und damit konnte ich, da ich es in der gleichen Flasche im Dunkeln, bei Zimmertemperatur zwischen 22—16° und verschlossen gehalten hatte, mit periodischen Versuchen die Vibrionen über 70 Tage lang beobachten. Durch Züchtungsversuche in peptonisiertem Wasser gelang es mir, deren Anwesenheit bis zum 62. Tage nachzuweisen. Natürlich musste ich wegen der geringen mir zur Verfügung stehenden Wassermenge die Zahl der Versuche zur Feststellung der höchsten Grenze der Lebensdauer des Vibrio einschränken. Die am 70. Tage mit dem letzten halben Liter des Probewassers ausgeführten Versuche ergaben ein negatives Resultat.

Ich habe den Vibrio in seinen Eigentümlichkeiten sogleich nach dem

ersten Uebergang vom Wasser in den künstlichen Nährboden beobachtet und später die verschiedenen Kulturen einer Vergleichsprüfung unterzogen, indem ich sie wiederholt auch noch nach 18 Monaten saprophytischen Lebens in künstlichen Kulturen prüfte.

Ich bewahrte 4 verschiedene Kulturen des Vibrio aus dem Brunnen von Sori, die ich mit 1, 2, 3, 4 bezeichne.

Die Nummer 1 entspricht der ersten Kultur
„ „ 2 „ „ nach 15 Tagen entnommenen Kultur
„ „ 3 „ „ „ 40 „ „ „ „
„ „ 4 „ „ „ 62 „ „ „ „

Die Eigentümlichkeiten des aus dem Wasser zu verschiedenen Zeitpunkten gezüchteten Vibrio blieben sich stets gleich mit Ausnahme der Agglutination, welche sich erheblich steigerte, und der Virulenz, die sich allmählich durch den Aufenthalt des Vibrio im Wasser verminderte. Ich führe in der folgenden Tabelle zuerst die Resultate der gleich nach der Züchtung in Reinkultur gemachten Proben, ferner die jener Proben an, die ich später mit den Kulturen ausführte, welche alle 4 oder 5 Wochen in neuen alkalischen Agar übertragen worden waren; dann die Resultate der Probe der Anfangsvirulenz der Vibrionen.

Herkunft der Kultur	Erste Probe sogleich nach der ersten Züchtung in Reinkultur								Probe nach ca. 18 Monaten (23. Februar 1913)							
	Ziegenimmunserum zu dem Titer 1 : 6000 verdünnt															
	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/4000	1/5000	1/6000	1/100	1/500	1/1000	1/2000	1/3000	1/4000	1/5000	1/6000
Choleravibrio Savona					+++	++	+	—							+++	—
„ Sori . . (aus Dejekt.)					+++	+	—	—							+++	—
„ Sori-Brunnen (1.Untersuch.)					+++	+	—	—							+++	—
„ Sori-Brunnen (n. 15 Tagen)					+++	+	+	—							+++	—
„ Sori-Brunnen (n. 40 Tagen)					+++	++	++	—							+++	—
„ Sori-Brunnen (n. 62 Tagen)					+++	+++	+++	—							+++	—

+++ heisst typische Agglutination mit Klärung der Flüssigkeit
++ „ „ „ „ ohne „ „ „
\+ „ schwache „
— „ negative „

Virulenzprobe der aus dem Brunnenwasser reingezüchteten Kulturen. Inokulation von 1—2 Oesen (je 2 mg) 20stündiger Agarkultur in das Peritoneum des Meerschweinchens.

	Gew. d. Tieres	Quantität d. Kultur	Ausgang
Kultur No. 1 . . .	217 g	1 Oese . .	stirbt innerhalb 12 Stunden
	312 „	2 Oesen .	„ „ 12 „
„ „ 2 . . .	302 „	1 Oese . .	ist am 6. Tage wieder gesund
	327 „	2 Oesen .	stirbt innerhalb 24 Stunden
„ „ 3 . . .	290 „	1 Oese . .	ist am 6. Tage wieder gesund
	305 „	2 Oesen .	„ „ 6. „ „ „
„ „ 4 . . .	315 „	1 Oese . .	„ „ 6. „ „ „
	322 „	2 Oesen .	„ „ 6. „ „ „

Hinsichtlich der Virulenz führe ich nur diese wenigen Versuche an, obwohl ich zahlreiche Proben gemacht habe, aus denen hervorgeht, dass bei Erhöhung der Dosen auf 3—4 Oesen mit Kulturen der Stämme 3 und 4 der Tod des Meerschweinchens später unter sekundären Intoxikationserscheinungen eintritt. Die vor kurzem gemachten Versuche haben mir dann gezeigt, dass die Virulenz bei allen Stämmen während des saprophytischen Lebens in den Laboratoriumskulturen sich so sehr abschwächte, dass der Stamm No. 1 nun das Meerschweinchen nicht mehr mit einer Oese tötet, sondern erst mit zwei Normalösen innerhalb 12 Stunden.

Der Pfeiffersche Versuch wurde nur bei der Kultur No. 1 mit bakteriolytischem Serum von dem Titer 0,0002 g und zwar mit positivem Resultate gemacht. Die Vibrionen erlitten innerhalb einer Stunde vollständige granuläre Zerstörung im Peritoneum des Meerschweinchens.

Zum Zwecke diagnostischer Ergänzung machte ich auch den Versuch der Komplementablenkung nach Bordet und Gengou und erhielt ein positives Resultat bei allen Vibriostämmen des Brunnenwassers im Vergleiche mit jenen aus den Dejektionen der Cholerakranken. In einer anderen Mitteilung werde ich auf die Einzelheiten der Versuche hinsichtlich dieser Probe eingehen.

Meine Befunde sind vor allem von Wichtigkeit:

1. weil es sich um eine neue Beobachtung einer durch Trinkwasser verursachten Choleraepidemie handelt, wie der Nachweis des specifischen Vibrio im Wasser des öffentlichen Brunnens und im ganzen die epidemiologischen Daten bekunden;

2. weil der Vibrio durch Züchtung in Reinkultur sogleich, nachdem er in das Brunnenwasser durch Infiltration von Verseuchungsflüssigkeit gelangt war, bis zu dem Augenblicke beobachtet werden konnte, wo er sich in derselben zusammen mit den anderen Bakterien in für seine Lebensfähigkeit ungünstigen Verhältnissen befand, was einen Versuch darstellt, der unter natürlichen Verhältnissen ausgeführt wurde und deshalb von den Laboratoriumsversuchen mittels künstlicher Mittel sehr verschieden ist;

3. weil aus dem Studium seiner Eigentümlichkeiten hervorgeht, dass er keine bemerkenswerten Veränderungen während des saprophytischen Lebens im Wasser ausser der Abschwächung seiner Virulenz erlitten hat. Seine agglutinierende Eigenschaft hat nicht nur keine Verminderung erfahren, sondern hat sich bedeutend vermehrt, da die erste Kultur bei 1 : 3000 und die letzten Kulturen bei einer Verdünnung von 1 : 5000 von demselben specifischen Serum agglutiniert wurden;

4. wegen der langen Lebensdauer des Vibrio (62 Tage) in einem Wasser, das im Laboratorium unter ziemlich ungünstigen Temperatur- und Umgebungsverhältnissen gehalten worden war.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE